

## FavorPrep™ Blood Genomic DNA Extraction Mini Kit

Cat: FABGK 000-Mini (4 回分) / FABGK 001 (50 回分) / FABGK 001-1 (100 回分) / FABGK 001-2 (300 回分)

本製品は研究用です

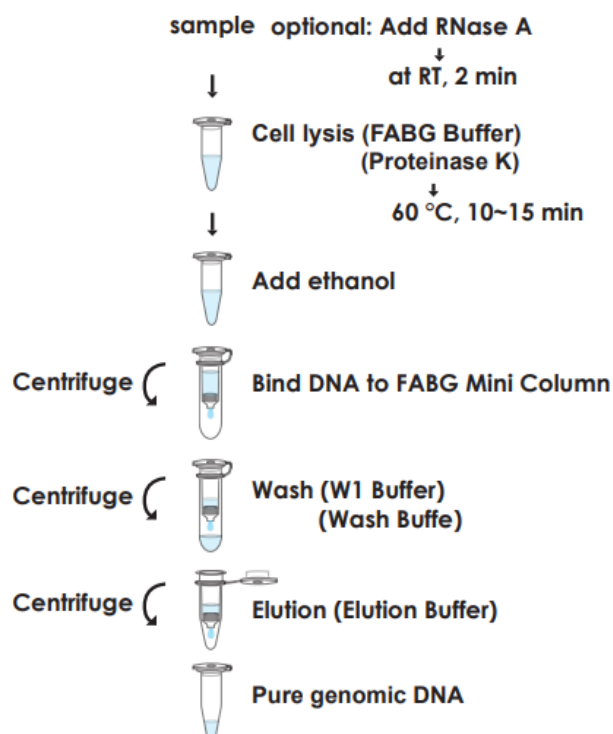
v 230401

### 🌈 キットの内容

	FABGK 000-Mini (4 preps_sample)	FABGK 001 (50 preps)	FABGK 001-1 (100 preps)	FABGK 001-2 (300 preps)
FABG Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml	70 ml
W1 Buffer (concentrated)*	1.3 ml	22 ml	44 ml	124 ml
Wash Buffer (concentrated)*	1 ml	10 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	1 ml	15 ml	30 ml	90 ml
Proteinase K (Liquid)	100 $\mu$ l	1050 $\mu$ l	1050 $\mu$ l $\times$ 2	1600 $\mu$ l $\times$ 4
FABG Mini Column	4 pcs	50 pcs	100 pcs	300 pcs
Collection Tube	8 pcs	100 pcs	200 pcs	600 pcs
Elution Tube	4 pcs	50 pcs	100 pcs	300 pcs
<b>*添加する 96-100%エタノール量</b>				
W1 Buffer	0.5 ml	8 ml	16 ml	45 ml
Wash Buffer	4 ml	40 ml	80 ml	200 ml

### 🌈 基本情報

構成	スピнкаラム (シリカメンブレン)
サンプル量	全血・血清・血漿・体液: 最大 200 $\mu$ l 培養細胞: 最大 $5 \times 10^6$
操作時間	< 30 分
結合量	60 $\mu$ g/column
収量	4-8 $\mu$ g/200 $\mu$ l 全血
溶出量	50~200 $\mu$ l



### 重要事項

1. 作業はゴム手袋、白衣を着用して行ってください。
2. W1 Buffer と Wash Buffer は開封時にエタノール（96-100%）を加えてください。
3. 操作を始める前に、ドライバス又はウォーターバスを 60℃に設定してください。
4. 遠心分離は、最大速度（～18,000×g）で行ってください。

### 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

ヒント:ドライバスまたはウォーターバスを 60℃に設定してください(ステップ 4 で使用)

Elution Buffer を 65℃に予熱してください。(ステップ 13 で使用)

1. 200  $\mu$ l までのサンプル（血液・血清・血漿・体液・バフィーコートなど）をチューブへ移してください。  
\* ただし、サンプルが 200  $\mu$ l 以下の場合は PBS を加え、200  $\mu$ l へ調整してください。
2. <オプション>RNA-free genomic DNA を抽出する場合  
4  $\mu$ l の RNase A (100 mg/ml) をサンプルに加え、室温で 2 分間インキュベートしてください。
3. 20  $\mu$ l の Proteinase K と 200  $\mu$ l の FABG Buffer をサンプルに加え、パルスボルテックスで混和します。  
\* Proteinase K は FABG Buffer へ直接加えないでください。
4. 60℃で 15 分間インキュベートし、サンプルを溶解します。インキュベーション中、3～5 分ごとに、サンプルをボルテックスで混和してください。
5. 数秒間スピンし、蓋の内側についた溶液を収集します。
6. 200  $\mu$ l のエタノール（96-100%）をサンプル溶液に加え、10 秒間パルスボルテックスで混和します。
7. 数秒間スピンし、蓋の内側についた溶液を収集します。
8. FABG Column を Collection tube へ取り付けます。サンプル溶液（沈澱物を含む）を FABG Mini Column に加え、6,000×g で 1 分間遠心分離します。FABG Mini Column を新しい Collection tube に取り付けます。
9. 直ちに 400  $\mu$ l の W1 Buffer を FABG Mini Column へ加え、18,000×g で 30 秒間遠心分離し、ろ液を捨てます。  
\* W1 Buffer にエタノールが添加されていることを確認してください。
10. 750  $\mu$ l の Wash Buffer を FABG Column へ加え、30 秒間遠心分離し、ろ液を捨てます。  
\* Wash Buffer にエタノールが添加されていることを確認してください。

11. さらに 18,000 × g で 3 分間遠心分離し、カラムを乾燥させます。  
重要ステップ！ : この操作は酵素処理を阻害する物質を取り除くために重要です。
12. FABG Mini Column を Elution Tube へ取り付けます。
13. 50–200 μl の温めた Elution Buffer または、ddH<sub>2</sub>O (pH7.5–9.0) を FABG Mini Column の膜中央に加え、3 分間静置します。  
重要ステップ！ : 効率よく溶出させるため、Elution Buffer をカラム膜中央へアプライし、完全に吸着させてください。
14. 1 分間遠心分離し、DNA を溶出します。
15. 精製した DNA は 4°C または、–20°C で保管してください。

#### <培養細胞>

1. 以下の方法で細胞を回収してください。
  - a) 液体培養 (Cells grown in suspension)
    - a-1. 1.5 ml のチューブに適量のサンプル (最大  $5 \times 10^6$  cell) を移します。
    - a-2. 300 × g で 5 分間遠心分離します。
    - a-3. 上清を取り除きます。
  - b) 単層培養 (Cells grown in monolayer)
    - b-1. トリプシンまたはスクレーパーを使用し、フラスコやシャーレから細胞を剥離させます。
    - b-2. 1.5 ml のチューブに適量のサンプル (最大  $5 \times 10^6$  cell) を移します。
    - b-3. 300 × g で 5 分間遠心分離します。
    - b-4. 上清を完全に取り除きます。

#### 上記の処理後

2. ペレットを PBS で再懸濁し、200 μl に調整します。
3. 一般的なプロトコルのステップ 2 へ進んでください。

#### <バフィーコート>

- 全血を 10 分間室温で 3,300 × g で遠心分離し、分画します。
- 上層は血漿、中間層が濃縮した白血球を含むバフィーコートで、下層が赤血球です。
- バフィーコートは全血と比較し、5–10 倍量の DNA が抽出できます。

## 🌈 トラブルシューティング

収量が十分でない	
サンプル量が少ない	サンプルを増やし、200 $\mu$ l にサンプルを濃縮してください。全血を処理する場合は、上記に示すようにバフィーコートで処理してください。
細胞の溶解が不完全	
Proteinase K 活性が不十分のため、細胞の溶解が不十分である。	新しいサンプルで抽出操作を再度行う。このとき、反応温度と時間が正しいことを確認してください。
FABG Buffer がサンプルと十分に混和していない。	サンプルと FABG Buffer を直ちにパルスボルテックスで十分に混合する。
インキュベーション時間が短い	インキュベーション時間を延長する。インキュベーション時間を延長し、残留微粒子がないことを確認する。
FABG Mini Column に移す前のライセートに、エタノールを添加していない。	新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。
Wash Buffer の調製の不備	
Wash Buffer へエタノールが加えられていない	最初に Wash Buffer を使用する時、エタノール (96–100%) を必要量加えてください。
Wash Buffer へ加えたエタノールの濃度が異なる。	
DNA 溶出が不十分	
ddH <sub>2</sub> O の pH が不適応	ddH <sub>2</sub> O の pH を 7.5–9.0 に調整してください。または、付属の Elution Buffer を使用してください。
Elution Buffer または ddH <sub>2</sub> O がカラムに完全に吸着されていない	Elution Buffer または、ddH <sub>2</sub> O を加えた後、FABG Mini Column を 5 分間静置してください。
カラムが目詰まりを起こしている	
細胞溶解液に非溶解性断片が含まれている	サンプルをよく混和してから使用してください。また、血液の場合は、抗凝固剤を使用し、血液の凝固を防いでください。
サンプルの粘性が高い	サンプル量を減らしてください。
溶出した DNA が変性している	
サンプルが古い	新鮮なサンプルを使用してください。
アガロースゲル電気泳動用バッファーが DNase に汚染されている	アガロースゲル電気泳動に使用するバッファーを再度調整してください。